Über
die künstliche Vermehrung der Blutmenge durch Infusion von Calciumlösungen.

Nach experimentellen Untersuchungen an Kaninchen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Georg August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Rudolf Siegel
aus Frankfurt a. M.

Göttingen 1924.
Druck der Dieterichschen Universitäts-Buchdruckerei
(W. Fr. Kaestner).

Der medizinischen Fakultät der Universität Göttingen vorgelegt am 30. Mai 1924.

Referent: Prof. Dr. Erich Meyer.

Die Drucklegung ist seitens der Fakultät genehmigt.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Nachdem Kestner[1]) durch 2—3 %iges Gummiarabikum in physiologischer NaCl-Lösung und Bayliss[2]) durch 6 %ige Gelatine oder 7 %iges Gummiarabikum in NaCl-Lösung eine Auffüllung der Blutbahn, besonders nach vorausgegangenen Blutverlusten festgestellt und Kestner dies auch bei gesunden Menschen gefunden hatte, wurde in einer Serie von Dissertationen an der hiesigen Klinik die Vermehrung des Blutvolumens in ihrer Einwirkung auf Herzgröße und Blutdruck am Kaninchen untersucht und im Zusammenhang damit auch die Frage nach dem dabei pharmakologisch wirksamen Prinzip aufgeworfen[3–8, 56–59]).

Klumker[8]) ging von der Tatsache aus, daß im Normosal und seinem Dialysierrückstand anscheinend ein kolloidal gebundenes Calcium vorliegt, und ferner in den kolloidalen Lösungen des Akaziengummi und der Gelatine in den Blutverdünnung hervorrufenden Konzentrationen ein Calciumgehalt vorhanden war, der nicht hinter dem des Serums zurückstand. Klumker ging daher über zur Herstellung einer kolloidalen Calciumlösung nach den Vorschriften von De Toni[9]) und erhielt in zwei Versuchen eine etwa 2 1/2 Stunden andauernde Blutverdünnung, aber nur, wenn er die fertige Lösung annähernd auf den Alkalitätsgrad des Serums gebracht hatte. Die nächstliegende Aufgabe war, diese Resultate nachzuprüfen und auszuarbeiten.

Zur Technik der Injektion sei bemerkt, daß im Durchschnitt 40 ccm der angewärmten Lösung binnen 20 Minuten in die Ohrvene des Kaninchens eingespritzt wurden. Eine schnellere Einlaufsgeschwindigkeit schädigt die Gefäßwände und erklärt nach den Untersuchungen Seulbergers[6]) die Mißerfolge Nonnenbruchs[10]) (40 ccm in 3 Minuten).

In den ersten Versuchen wurde noch 20 %iges Äthylurethan zur Narkose verwandt, später aber fanden die Versuche an nichtnarkotisierten Tieren statt. Denn nach Untersuchungen von Boykott und Jones[11]) ergab sich bei Ratten in Narkose eine verlangsamte und unvollständige Auffüllung des Blutvolumens nach Blutung, in anderen Versuchen eine schnellere Abgabe der transfundierten Flüssigkeit bei narkotisierten Tieren. Dagegen ist die Narkose nach Nonnenbruchs Untersuchungen ohne Einfluß auf die Verteilung von Hämoglobin und Erythrozyten und Erythrozyten-Volumen. Hinsichtlich der Hämoglobin- und Erythrozytenwerte für die Bestimmung der Blutkonzentration und die möglichen Fehlerquellen sei auf eine Arbeit von Nonnenbruch[12]) verwiesen. Die Hämoglobinwerte wurden im Autenriethschen Kolorimeter bestimmt, das nach dem Sahlischen Hamoglobinometer geeicht wurde. Was die Beurteilung der Gesamtblutmenge anbetrifft, so kann man diese auf ca. $^1/_{15}$ des Körpergewichts schätzen (Magnus[13]): 7 %). Beispielsweise bei einem Tier von 2500 g und einer Erythrozytenzahl von 4,5 Millionen im cmm müßte eine Infusion von 40 ccm ein Absinken der Zahl der roten Blutkörperchen um etwa eine Million zur Folge haben, um die Auswertung im Sinne einer Blutverdünnung zu rechtfertigen.

Herstellung der De Tonischen Lösung. Die Lösung wurde hergestellt, indem 25 ccm warmer 5 %iger Gelatinelösung tropfenweise mit 10 ccm einer warmen $CaCl_2$-Lösung (14 mg Ca in 10 ccm) und 10 ccm einer heißen Na_3PO_4-Lösung (95 mg) und 5 ccm Wasser, das 0,35 g Kochsalz enthielt, versetzt wurden. Die Lösung reagierte alkalisch auf p-Nitrophenol, schwach sauer auf Lackmus; Calciumgehalt etwa 30 mg %. Zwei Versuche an Kaninchen, die mit einer Mischung von etwa 50 g Kohl und Rüben und 20 g Hafer gefüttert wurden, ergaben keine Blutverdünnung (Vers. 1 und 2). In weiteren Versuchen wurde die Lösung durch $NaHCO_3$ für Lackmus gerade alkalisch gemacht. Versuch 3 ergibt keine Verdünnung. Die Lösung zeigte ultramikoskopisch gleichmäßig feine Teilchen. Versuch 4 ergab auch keine Veränderung, wenn man von einer vorübergehenden Eindickung

(stärkster Gefäßkrampf; Narkosewirkung?) absieht. Auch ein Versuch (5) mit alkalisierter 5 %iger Gelatine verlief ergebnislos.

Da bisher der Alkalitätsgrad nur annähernd festgelegt worden war, lag die Vermutung nahe, daß schon ein geringes Abweichen von der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes zu einem Austritt der Flüssigkeit aus der Blutbahn führen könnte, vielleicht durch Einwirkung auf die Gefäßwände. So hat Heymann[14]) nachgewiesen, daß Säurezusatz zum Serum im Durchströmungsversuch am Läwen-Trendelenburgschen Froschpräparat Ödeme hervorruft; daß das Kaninchenohr sogar empfindlicher gegenüber Säurewirkungen ist als der Frosch. Magnus[15]) wies nach, daß Hydrämie und hydrämische Plethora am normalen Tier keine allgemeinen Hautödeme hervorrufen, jedoch nach Absterben der Gefäßwände oder Giftschädigung zu Anasarka führen. Freund und Ellinger[16]) zeigten, daß Kapillarschädigung, z. B. durch Infusionen, zum Austritt von Eiweiß führt. Atzler und Lehmann[17]) [18]), sowie die umfangreichen Arbeiten von Heß[19]) beleuchten den großen Einfluß der H-Ionenkonzentration auf den Tonus der Gefäßwand. Fleisch[20]) findet schon einen Einfluß auf die Gefäßweite bei einer Änderung der H-Ionenkonzentration um $0{,}05 \cdot 10^{-7}$. Die gegenseitige Verteilung der Serumkolloide und -Ionen ist ebenfalls von P_H abhängig. Zur Bestimmung des P_H in kleinen Flüssigkeitsmengen diente das von Prof. Bresslau zusammengestellte Hydrionometer (Lautenschläger), eine Modifikation der Indikatorenmethode.

Versuch 6 mit einer De Tonischen Lösung von $P_H = 7{,}4$ ergab keine Verdünnung, Versuch 7 mit $P_H = 7{,}5$ ergab eine beträchtliche Verdünnung, die aber wenig länger als eine Stunde anhielt. Zwei weitere Versuche (Nr. 8 mit $P_H = 7{,}4$ und Nr. 9 mit $P_H = 8{,}3$, alkalisch) ergaben ebenfalls keine Verdünnung. Mit dem Fehlschlagen der Versuche, die von Klumker erreichten Ergebnisse zu bestätigen, erhob sich die Frage, ob die Mißerfolge sich aus der Zusammensetzung der Lösung oder aus einem von früher abweichenden Verhalten der Tiere erklärten. Es lag nahe, zuerst nach einer anderen, womöglich kolloidalen Lösung des

Calciums zu fahnden. Damit wurde die physikochemische Seite des Problems von neuem aufgerollt.

Das Calcium kann in 4 Formen auftreten.

I. Als Kolloid. Hoeber[21]) faßt die von Pauli und Samec[22]) gefundene erhebliche Löslichkeitserhöhung des $Ca_3(PO_4)_2$ und des $CaCO_3$ durch Gelatine oder Serum als Suspendierung in feinster Form dank der Anwesenheit von Schutzkolloiden auf. Die von De Toni angegebene Modifikation dieser Lösungsform lag freilich damals noch nicht vor. Weitere künstliche kolloidale Calciumlösungen bestehen anscheinend noch nicht.

II. Als Amphisalz. Seit den Arbeiten von Pfeiffer und Modelski[23–27]) kennen wir eine Reihe von Verbindungen der Alkalien und Erdalkalien mit Aminosäuren oder anderen organischen Substanzen. Es bilden sich wohldefinierte Komplexsalze mit bestimmter Krystallisationsform. Ferner ist von der Firma Helfenberg ein Calciumsalz des einfachsten Mannitschwefelsäureesters in den Handel gebracht worden („Helfenberger Kalzium-Injektion"); von der Firma Bayer das fructose-monophosphorsaure Calcium (Heubner)[28]). In beiden Substanzen haben wir zwar Salze organischer Säuren vor uns; möglicherweise spielt aber auch eine Absättigung von Nebenvalenzen im Sinne einer Komplexbindung dabei eine Rolle. Über beide Salze wird noch berichtet werden.

III. Kommt das Calcium als Salzmolekül vor.

IV. Als Ion.

Aus der Beobachtung, daß calciumhaltige Flüssigkeiten wie Normosal, Gelatine und Gummiarabikum Blutverdünnung hervorrufen, ergibt sich die Frage: in welcher Form ist das Calcium wirksam? Ist es vielleicht in verschiedenen Formen von verschiedener Wirksamkeit, sei es daß für verschiedene Angriffspunkte eine bestimmte Bindung erforderlich ist oder daß am gleichen Angriffspunkt die verschiedenen Bindungsformen von unterschiedlicher Wirkung sind. Rona und Takahashi[29]) fanden durch Kompensationsdialyse, daß 25—35% des Serumcalciums nicht diffusibel, die gesamten Phosphate dagegen diffusibel sind. Sie nehmen an, daß das nichtdiffusible Calcium hauptsächlich als

Eiweiß-Calcium-Verbindung (wahrscheinlich ein hydrophiles Kolloid) existiert, das diffusible dagegen in Form des Calciumhydrokarbonats in übersättigter Lösung, nur zum kleinsten Teile ($^1/_5$) aber als Ion (Brinkmann und van Dam, cit. nach Heubner)[30]. Rona und Petow[31]) haben festgestellt, daß die Diffundierbarkeit sich bei wechselnder Reaktion ändert, indem bei saurer Reaktion im Serum mehr Kalium zurückbleibt, das Calcium mit steigendem P_H aber leichter diffundiert; die Proteine bilden ihrer Ansicht nach unter den Bedingungen, unter welchen sich mehr Kalium in komplexer Form mit dem Eiweißradikal vereinigt, weniger komplexe Calciumsalze und umgekehrt. Das Calcium befindet sich im Serum in einem Gleichgewicht verschiedener Bindungsformen. Das Verteilungsverhältnis der einzelnen Anteile zueinander hängt von dem Gesamtaufbau des Serums ab. Denn jede Änderung der Ionenkombination, des Säure-Basengleichgewichts oder des Eiweiß- und Wassergehaltes muß ein anderes Gleichgewicht der Calciumverteilung hervorrufen und kann dadurch sogar zu entgegengesetzter physiologischer Wirkung führen (Spiro)[33]). Die bisherigen Anschauungen gingen darauf hinaus, daß biologisch nur Ionen wirksam seien. Der Begründer und Hauptvertreter dieser Lehre ist Hamburger[34]). Auch Höber vertritt den gleichen Standpunkt und sucht den Ionenantagonismus physikalisch verständlich zu machen. Am wichtigsten erscheint ihm der Zusammenhang zwischen den antagonistischen Funktionen der einzelnen Ionen einerseits und Ladungssinn, Lösungstension und Wertigkeit andererseits. J. Loeb[35]) führte schon 1912 den Nachweis, daß für die Haltbarkeit der Funduluseier gegenüber giftigen Salzen nicht das Calcium-Ion, sondern das Calciumchloridmolekül wirksam sei und daß es dabei gerade auf dieses Molekül ankomme. Andere Salze, die Calciumionen oder Chlorionen abspalten, erwiesen sich als unwirksam. Trendelenburg und Goebel[36]) zogen aus ihren Versuchsresultaten nicht die richtige Schlußfolgerung, obwohl daraus hervorgeht, daß die Gesamtcalciummenge, nicht aber bloß das ionisierte Calcium wirksam ist. Günther und Heubner[37]) fanden, daß kolloidales Calciumoxalat in Stärkekleister oder Gelatine auf das Froschherz noch eine Wir-

kung ausübt, wie sie sonst nur den Calciumionen zugeschrieben wurde. Auch Normosal wirkt noch im Zustande der Opaleszenz wie die klare Lösung; ein Einfluß des Übergangs aus der wahrscheinlich molekularen Verteilung des Calcium in eine gröbere besteht nicht (Nöther)[38]). Die bisher ausgeführten Versuche, eine Blutverdünnung zu erreichen, gelangen nur mit kolloidalen Lösungen (Gelatine, Gummiarabikum), deren Calciumgehalt nicht unter dem des Serums war. Sie fielen negativ aus bei krystallinischen Calciumlösungen mit teilweise außerordentlich hohem Calciumgehalt (bis zu 0,5 g% Hanhardt)[4]). Das legte die Annahme nahe, daß das Calcium in kolloidaler Bindung und nicht als Ion das wirksame Prinzip dabei sei. Immerhin besteht noch der Einwand, daß die kolloidale oder komplexe Bindung des Calcium nur als Zwischenträger dienen könnte, um am Wirkungsorte das Calcium als Ion abzuspalten; wie z. B. Freudenberg und György[39]) annehmen, daß das Calciumkomplexsalz nur dem Transport zur Verknöcherungsstelle diene, dort aber dann eine chemische Fällung, d. h. ein Ionenprozeß stattfände. Es ist sicher nicht falsch, wenn man sich vorstellt, daß dem Calcium zwei ganz verschiedene Wirkungsweisen vorkommen, einerseits die als elektrisch geladenes Ion, andererseits die chemische Reaktion, bei der es nicht nur auf die Ladung, sondern im wesentlichen auf seinen spezifischen Charakter gerade als Calcium ankommt. Im ersten Falle ist es vertretbar durch zweiwertige Ionen, im letzteren wirkt es als chemisches Individuum, als Vertreter einer bestimmten Stelle des Periodischen Systems. Mit dieser doppelten Wirksamkeit erklärt Hoeber[40]) manche scheinbaren Widersprüche der Calciumwirkung bei seinen Versuchen. Da der Kaliumüberschuß an der Synapse von Nerv und Muskel nach seinen Untersuchungen auch durch andere zweiwertige Ionen aufgehoben werden kann, handelt es sich seiner Ansicht nach nur um die Aufhebung einer Quellung (Lockerung des Kolloidgefüges), nicht aber um den Ersatz einer chemischen Bindung. Als Beispiel für eine chemische Bindung sei die von Hoeber erwähnte, von Hamburger und de Haan gefundene Steigerung der Phagocytose der Leukozyten erwähnt, die durch Calcium, aber sogar nicht durch Strontium her-

vorgerufen werden kann. Daß dem Calcium-Ion beide Wirkungsmöglichkeiten zukommen, ist nicht zu bestreiten. Dagegen wird bei komplex gebundenem Calcium oder bei einer Calciumverbindung in kolloidalem Zustand neben einer Löslichkeitserhöhung wohl auch eine erleichterte chemische Bindung zu erwarten sein. Es sollte die Aufgabe weiterer Versuche sein, diesen Gedanken an dem Beispiel der Blutverdünnung zu beweisen.

Nachdem die Versuche mit Gelatinelösungen nach De Toni gescheitert waren, führten die Erwägungen, daß im Organismus das Calcium nicht als Phosphat — nach Rona[41]) sogar in der Milch als Calciumkaseinverbindung — auftritt, zu der Forderung, eine andere Lösung zu finden, in der Calcium nicht ionisiert, aber auch in nicht zu grobdisperser Form enthalten war und eine andere Bindung aufwies.

Da nach den Anschauungen von Pfeiffer u. a. in den wäßrigen Lösungen der Amphisalze diese schon präexistieren, neben einem Teile, der ionisiert und hydrolytisch gespalten ist, wurde nach der Vorschrift das Diglykokol-Calciumchlorid hergestellt (durch langsames Eindampfen aus schwach essigsaurer Lösung von 1 mol $CaCl_2$ + 2 mol Glykokoll)[23]). Unter dem Mikroskop konnte das Amphisalz als solches durch Auftreten der farblosen prismatischen Nadeln identifiziert werden; auch waren die Löslichkeitsbedingungen des Calcium bei Zusatz anderer Salze in seiner Bindung als Amphisalz besser.

In Versuch 10 wurde 0,1 g des Salzes (12 mg Ca enthaltend) in 50 ccm Wasser gelöst und durch Zusatz von 0,4 g NaCl isotonisch gemacht. Die Infusion ergab keine Verdünnung des Blutes. Das vorübergehende Absinken der Werte für Hämoglobin und Erythrozyten ist noch zu gering, um eine positive Wertung zu erlauben. Zwei weitere Versuche (11 und 12) fielen auch völlig negativ auf.

Da in den oben erwähnten Helfenbergerschen und Bayerschen Präparaten vielleicht eine ähnliche Calciumbindung vorliegt wie in dem Diglykokoll-Calciumchlorid, so wurden sie ebenfalls zu Infusionen verwandt. Die „Helfenbergersche Kalziuminjektion“ wird in ihrem Prospekt zwar als „annähernd kollo-

idal“ bezeichnet, stellt nach Analyse von Heubner[28]) aber das Calciumsalz des einfachsten Mannitschwefelsäureesters dar, ist völlig dialysierbar und sofort quantitativ durch Oxalat ausfällbar. Sie enthält etwa 1,4% Calcium. Im Hämolyseversuch ergab sich in der reinen Lösung starke Hämatinbildung, bei der Verdünnung 1/6 trat die erste, bei 1/9 komplette Hämolyse auf. Ihr P_H beträgt 3,5. Bei dem Versuch, sie mit NaOH oder $NaHCO_3$ zu neutralisieren, bildete sich sofort ein unlöslicher Niederschlag. Zur Injektion wurden 10 ccm der Lösung mit 30 ccm Wasser verdünnt und auf Körperwärme gebracht. In den drei Versuchen 13, 14, 15 zeigte sich regelmäßig eine mehrstündige Abnahme der Blutmenge, die sich in einem Ansteigen der Werte für Erythrozyten und Hämoglobin dokumentierte, ohne daß der Refraktometerwert erheblich anstieg; in einem Versuch blieb er sogar unverändert. Später stellte sich die ursprüngliche Blutkonzentration wieder her. Der Urin am Morgen nach der Injektion erwies sich als hämoglobinfrei.

Das fructosemonophosphorsaure Calcium (Bayer) erhöht nach den Untersuchungen von Heubner[28]) den Calciumgehalt der Blutflüssigkeit erheblich, „ohne daß das Herz mit deletären Störungen reagierte“. Es enthält nach Heubner 12,5% Calcium, ist nur in kaltem Wasser, aber dann leicht löslich und zeigt in jeder Verdünnung ein P_H von 7,6. Eine Lösung von 2 g des Salzes in 53 ccm Wasser enthielt 0,47% Calcium; das entspricht einer Dosis von 0,05 g Calcium pro kg des Versuchskaninchen (3600 g), also der halben letalen Dosis nach den Feststellungen von Heubner. Die Infusion von 40 ccm dieser Lösung hatte einen kurzdauernden Anstieg der Hämoglobin- und Erythrozytenwerte zur Folge (Versuch 16), die als Verminderung der Gesamtblutmenge aufzufassen ist.

Eine Lösung von 0,4 g des Salzes in 50 ccm Wasser enthielt 50 mg Calcium = 0,1 g%. Die Lösung wurde durch Zusatz von NaCl isotonisch gemacht, so daß bei dem gleichen Verdünnungsgrad wie bei Normosal oder physiologischer Kochsalzlösung Hämolyse auftrat, Versuch 17 zeigte keine erhebliche Änderung der Blutwerte nach der Injektion.

Nach diesen paradoxen Resultaten wurde der Versuch gemacht, anorganische schwerlösliche, daher auch nichtionisierte Calciumlösungen, die in den zur Injektion erforderlichen Konzentrationen schon eine stark übersättigte Lösung darstellten, durch Zusatz von Aminosäuren vor dem Ausfallen zu bewahren. Ob dabei Komplexsalze entstanden oder das Calciumsalz in einen kolloidalen Zustand übergeführt wurde, konnte noch nicht festgestellt werden. — Da zur Herstellung von $Ca_3(PO_4)_2$-Lösungen, die 30 mg Ca enthielten, ein so erheblicher Zusatz von Glykokoll sich als erforderlich erwies, daß die endgültige Lösung stark hypertonisch war, so wurde trotz eines positiven Versuchs (18) sogleich die Herstellung analoger Calciumkarbonat-Lösungen unternommen.

10 ccm einer $CaCl_2$-Lösung (12 mg Ca) wurden mit 10 ccm einer 5%igen Glykokoll-Lösung (0,5 g) versetzt, mit 10 ccm Wasser verdünnt und ebenfalls angewärmt tropfenweise 10 ccm einer Sodalösung zugesetzt, die in 10 ccm das Äquivalentgewicht Na_2CO_3 zu 12 mg Ca enthielt. Um eine stabile wasserklare Lösung zu erhalten, waren auf ein Gewichtsteil Ca etwa 40 Gewichtsteile Glykokoll notwendig. Die Lösung wurde durch Zusatz von Kochsalz (0,15 g%) isotonisch gemacht und im Hämolyseversuch als annähernd blutisotonisch befunden. Durch tropfenweisen Zusatz von Säure und Lauge wurde der Neutralitätspunkt erreicht. Zwei Versuche (19 und 20) mit dieser Lösung Blutverdünnung zu erzielen, schlugen auch fehl. Nach den Untersuchungen von Spiro[42]) wird die Löslichkeit der Aminosäuren und Eiweißkörper durch Kalium und Calcium antagonistisch beeinflußt, und auch aus früheren Untersuchungen (Loeb, Mines u. a. Lit. s. Höber)[21]) ist ihr physiologischer Antagonismus bekannt. Auch hat Osterhout[44]) schon 1906 gefunden, daß die Sporen von Vaucheria sich in einem Gemisch von $NaCl + CaCl_2 + KCl$ länger halten als in $NaCl + CaCl_2$, darin aber wieder länger als in reiner NaCl-Lösung. Es war daher die Möglichkeit, durch Salzkombination endlich zu positiven Resultaten zu kommen, nicht von der Hand zu weisen.

Die Kombination des Diglykokoll-Calciumchlorid, sowie der

Lösung des Calciumkarbonats in Glykokoll mit Kalium (annähernd nach dem Spiroschen Quotienten 1 Ca : 2,6 K) brachten nicht den erwarteten Erfolg (Versuche 21 und 22). Merkwürdigerweise trat nach der Injektion des Amphisalzes in der Kombination mit Kalium eine erhebliche Bluteindickung auf. Das schwächliche Tier, ein Albino, wurde nach Entblutung der Sektion unterworfen. Die Baucheingeweide waren stark von Coccidien und Echinokokken durchsetzt. Die wiederholten Mißerfolge ließen die Frage aufwerfen, ob die zum Versuch benutzten Tiere auch auf Normosal nicht mit Blutverdünnung reagierten, zumal auf Grund einer großen Anzahl von Versuchen, besonders von Behrens[7]), fast stets durch Normosal eine Auffüllung der Gefäßbahn erzielt worden war. Es lag daher der Gedanke nahe, künftighin alle Versuchstiere mit Normosal zu eichen, d. h. festzustellen, ob sie überhaupt zum Versuch geeignet seien. Fünf Tiere (Versuche 19a, 23, 24, 25, 26) zeigten keine Veränderung der Blutmenge nach Normosalinjektion). Dagegen erfolgte bei einem Kaninchen (Versuch 24) ein sekundärer Einstrom von Flüssigkeit in die Blutbahn. Bei einem der Tiere (Versuch 23) wurde die Größe des Herzschattens im Röntgenbilde vor und nach der Infusion gemessen. Wie zu erwarten war, blieb mit der Gesamtblutmenge auch die Herzgröße konstant.

Auch zwei Versuche (28 und 29) mit frisch gewonnenem Kaninchenserum, mit dem Klumker eine mehrere Stunden andauernde Blutverdünnung erzielt hatte, fielen negativ aus.

Der Widerspruch unserer Versuche mit den früheren läßt sich nur durch ein anderes Verhalten der Versuchstiere erklären. Es liegen bereits andere Beobachtungen in dieser Richtung vor. So haben Ellinger und Heymann[45]) gefunden, „daß Serum purum und Serum-Ringer bis zur Verdünnung 1 : 4 im Winter noch stark ödemwidrig bei der Durchströmung des Läwen-Trendelenburgschen Froschpräparates wirken; dagegen trat im Sommerversuch schon bei geringeren Verdünnungen des Serums keine ödemwidrige Wirkung mehr auf. Es kam sogar ausnahmsweise vor, daß bei Durchspülung mit reinem Serum Flüssigkeitsretention im Muskel stattfand". In diesem Zusammenhang ist auch die Fest-

stellung von H. Straub[46]) interessant, daß das P_H des Blutes im Frühjahr einen anderen (niedrigeren) Wert hat als im Herbst. Cori[47]) fand, daß im Blut der Sommerfrösche zweimal soviel Calcium enthalten ist wie in dem der Winterfrösche. Da mit den Jahreszeiten auch das Gleichgewicht zwischen Vagus und Sympathikus sich verändert (Cori), seien auch die Feststellungen Yamamotos[48]) über die Beeinflussung der Permeabilität der Gefäße nach Eingriffen in ihre sympathische Innervation hier erwähnt. Der Zeitraum, während dessen die vorliegenden Versuche stattfanden, erstreckte sich über ein halbes Jahr hin. Nonnenbruch[10]), der auch mit Normosal nie eine länger dauernde Verdünnung des Blutes erhielt, erzielte auch nach Entnierung, nach Aderlaß und Futteränderung keine besseren Resultate. Freilich kommt noch in seinen Versuchen die oben erwähnte schnelle Einlaufsgeschwindigkeit als Fehlerquelle hinzu. Der Gedanke, durch Futteränderung den Stoffwechsel und die Reaktionsfähigkeit der Kaninchen von Grund auf zu ändern, ist Anlaß verschiedener Versuche gewesen. Aus der Arbeit von Luithlen[49]) geht hervor, daß bei Grünfütterung (Kohl, Kraut, Sellerie) die Kaninchen im wesentlichen Natrium verlieren und an Calcium, Magnesium und Kalium reicher werden: es findet mit dem Grünfutter eine Mineralisation der Tiere im Sinne einer Basenanreicherung statt. Zugleich erfolgt eine erhebliche Flüssigkeitsaufnahme. Bei Haferfütterung wird das Tier an Calcium und Kalium ärmer, an Magnesium und Natrium reicher, die Reaktionsempfindlichkeit der Haut gegenüber entzündlichen Reizen ist stark erhöht, doch bleibt das Tier im Basenäquivalentgleichgewicht. Da im Hafer ca. 60 % Anionen und ca. 40 % Kationen, dagegen in der Grünfutterasche 60 % Kationen und 40 % Anionen nach den Untersuchungen von Luithlen enthalten sind, so kann man den Hafer als saures Futter im Verhältnis zum Grünfutter auffassen. Diese Wirkung auf den Organismus wird bestätigt durch die Untersuchungen von Hasselbalch[50]). Er fand, daß das P_H im Kaninchenblut bei Haferernährung 7,36, bei Grünfutter 7,24 beträgt und daß mit steigernder Acidität des Harns die CO_2-Spannung des Blutes sich erniedrigt. Die Geringfügigkeit dieser Änderungen

erklärt sich aus der hohen Pufferungsfähigkeit des Blutes, mittels deren es fast starr das für die Körperfunktion optimale P_H (7,3—7,4) festhält. Beckmann und Kl. Meyer[52]) untersuchten bei Kaninchen weiterhin auch den Zusammenhang von Alkali-Reserve und CO_2-Spannung des Blutes in ihrer Abhängigkeit von der Vorfütterung und unterwarfen Stickstoff-, Salz- und Wasserhaushalt einer erneuten Nachprüfung. Sie fanden erhebliche Unterschiede in den Werten, die sie bei Haferkaninchen und solchen, die mit Grünfutter ernährt waren, erhielten. Bei Tieren, die mit Heu und Kartoffeln gefüttert wurden, betrug die CO_2-Spannung im Arterienblute 31,6 mm Hg, bei Hafertieren 34,8 im Mittel, woraus sich ein P_H von 7,42 resp. 7,28 berechnen läßt; im Harn betrug P_H bei Heu-Kartoffel-Fütterung 8,5—9,13, bei Haferkoste 6,6—8,08. Auf weitere Einzelheiten dieser umfangreichen Untersuchungen einzugehen, würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten. Auf die Fütterungsversuche von Oehme[53]) sei gleichfalls hingewiesen. Bemerkt sei, daß Birkenstock[5]) eine Verzögerung des Wasser-Eiweiß-Einstroms in die Blutbahn nach Aderlaß beim Hafertier gegenüber dem Rübentier beobachtete, was er auf eine relative Wasserarmheit der Gewebe zurückführt.

In den eigenen Versuchen wurden drei Kaninchen, die auch vorher zum Teil auf Normosal keine Verdünnung ergeben hatten, drei Wochen lang mit etwa 250 g Rüben und Kartoffelschalen, ein Tier mit 50 g angefeuchteten Hafers ernährt (Versuch 30, 31, 32, 33). Eine Infusion von 40 ccm Normosal ergab bei keinem der so vorbehandelten Tiere eine, wenn auch nur kurzdauernde Verdünnung des Blutes.

Aus der Überlegung heraus, durch Calciumanreicherung vielleicht auf dem Wege der gefäßdichtenden Wirkung den Austritt der Injektionsflüssigkeit hintan zu halten, wurde bei einem Tiere, bei dem Normosal (in Versuch 19 a) sofort aus der Blutbahn verschwand, innerhalb von 11 Tagen 16 g Calcium lacticum, fein pulverisiert in Wasser aufgeschwemmt, mittels Magensonde eingeflößt. Auch danach zeigte dieses Tier keine Verdünnung, weder mit Na_2CO_3 in Glykokollösung (Versuch Nr. 19 b) noch mit Nor-

mosal (Versuch 19c). Freilich wäre, wie nachträglich durch die Veröffentlichung von Jansen[55]) bekannt wurde, die Kalkbilanz durch Verabreichung eines anderen Calciumsalzes, etwa Calcium-Acetat, günstiger ausgefallen. Auch hat Heubner[30]) nach Calciumfütterung keine Vermehrung des Organcalciumgehaltes gefunden.

Zusammenfassung.

Fassen wir die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit kurz zusammen, so ergibt sich: Kolloidales $Ca_3(PO_4)_2$ in Gelatine (nach De Toni) macht weder bei saurer noch bei einer dem Serumwert entsprechenden alkalischen Reaktion Blutverdünnung. Da die Möglichkeit bestand, daß der Verteilungsgrad des Calcium zu grob dispers oder die Bindung an Phosphat von ungünstiger Wirkung sein könnten, wurden andere Lösungen weniger oder nicht-ionisierten Calciums angewandt. Infusionen von Zuckercalcium-verbindungen (Bayer und Helfenberg) und Glykokoll-Calciumsalzen (Pfeiffer) führten ebensowenig zu einem positiven Ergebnis. Es war anzunehmen, daß $Ca_3(PO_4)_2$ oder $CaCO_3$ in übersättigter Lösung, aber durch Zusatz von Glykokoll vor dem Ausfallen bewahrt, noch weniger ionisiert seien. Auch Versuche in dieser Richtung erzielten keine Blutverdünnung. Ebensowenig die Kombination mit KCl im Verhältnis des Spiroschen Quotienten. Für die Tatsache, daß bei einigen Infusionen ein Ansteigen der Werte für Erythrozyten und Hämoglobin beobachtet wurde, fehlt jede Erklärung. Auch Versuche mit Normosal und Kaninchenserum führten zu keiner Blutverdünnung. Nach diesen Ergebnissen, die ja auch in Widerspruch zu den Versuchen anderer Autoren standen, welche Blutverdünnung mit kolloidalen Calciumlösungen und Normosal erhalten hatten, konnte man sich kein Urteil über die verschiedenen Infusionsflüssigkeiten erlauben. Da immerhin die Möglichkeit bestand, daß die Mißerfolge durch ein besonderes Verhalten der Tiere zu erklären waren, und es außerdem bekannt ist, wie stark der Wasser- und Mineralstoffwechsel der Kaninchen von der Fütterung abhängt, wurden einige Tiere auf Kohl- und Rübenkost, ein anderes auf Haferkost gesetzt und

ein weiteres Tier mit Calcium lacticum gefüttert. Nach ausreichender Dauer der Vorperiode fanden wiederum Normosalinfusionen statt; auch diesmal mit negativem Ergebnis. Jahreszeitliche Schwankungen konnten kaum in Betracht gezogen werden, da die Versuche sich über 6 Monate erstreckten. Es muß sich um Faktoren bisher noch völlig unbekannter Art handeln, von deren Wirksamkeit die Einstellung der Gesamtblutmenge beim Kaninchen abhängt. Es ist noch eine offene Frage, ob es sich bei den Infusionen körperfremder Flüssigkeiten, welche Blutverdünnung machen, um Lösungen handelt, die in diesen Regulationsmechanismus in pharmakologischem Sinne eingreifen und ihn auf ein anderes Niveau einstellen, oder ob es sich um eine — sit venia verbo — physiologische Wirkung handelt, indem die Infusionsflüssigkeit keinen abnormen Reiz ausübt, sei es in chemisch-physikalischem Sinne durch eine besonders geeignete innere Struktur der Lösung, oder sei es durch eine abnorme Spannweite der Reizschwelle des Organismus, wie bei den Aderlaßtieren und den Patienten mit kleinem Herzen. Denn vielleicht wird der Reiz zum Auspressen der Flüssigkeit aus der Gefäßbahn überhaupt dann erst einsetzen, wenn eine dem Körper adäquate Gesamtblutmenge erreicht ist.

* * *

Am Schlusse meiner Arbeit möchte ich nicht verfehlen, meinen verehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. Erich Meyer und Herrn Prof. Dr. Seyderhelm meinen besten Dank auszusprechen für die vielseitige Anregung und fortdauernde Unterstützung, die sie mir im Verlauf dieser Arbeit haben zuteil werden lassen.

Protokolle.

Im folgenden werden nur Versuchsprotokolle zusammengestellt, die eine Veränderung der Blutwerte nach der Injektion zeigten. Die im Autenriethschen Kolorimeter abgelesenen Werte für Hämoglobin sind in % Sahli ausgedrückt, die Erythrozytenwerte in Millionen, Serumeiweiß in %.

I.

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Refrakt.	Gewicht
23. XI. 23.	1 Uhr		5,2		3000 g
	6 „	69 %	5,15	6,4 %	
	9^{15}	68 „	5,38		
	11^{00} : 10 ccm Urethan				
	11^{45}	68 %	5,55	7,0 „	
	12^{40}—1^{00}	Injektion von 40 ccm alk. Lösung nach de Toni			
	1^{20}	69 %	5,58	6,6 %	
	1^{50}	68 „	5,77	6,6 „	
	4^{00}	60 „	4,75	5,7 „	
	6^{35}	57 „	4,94	6,2 „	
	8^{45}	50 „	4,35	—	
	10^{20}	55 „	4,70	6,6 „	
25. XI.	3^{36}	62 „	5,20	6,6 „	2800 g

II.

Alkal. Lösung nach de Toni ergab keine Verdünnung; die von Dr. Behrens in diesem sowie einigen anderen Versuchen vorgenommene gleichzeitige Blutdruckmessung ergab nach der Inj. keine Veränderung.

IV.

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Refrakt.	Gewicht
21. I. 24.	6^{00}	48 %	4,90	6,4 %	1600 g
23. I. 24.	10^{00}	46 „	4,6	6,3 „	
	4^{00}	6 ccm Urethan			
	5^{00}	72 %	5,6	6,6 „ : stärkster Gefäßkrampf	
	5^{35}—5^{55} : 40 ccm Lösung (alkal. de Toni)				
	6^{00}	63 %	4,8	5,9 %	
	6^{10}	72 „	5,4	6,6 „ Gefäßkrampf dauert fort	
	7^{30}	68 „	4,7	6,6 „	

VII.

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Refrakt.	Gewicht
5. II. 24.	4^{00}	61 %	5,0	5,6 %	3600 g
	Narkose: 10 ccm Urethan, aufgebunden.				
	5^{00}	60 %	5,5	5,6 %	
	5^{50}—6^{10}: 40 ccm de Toni (P_H = 7,5)				
	6^{15}	53 %	4,5	4,8 %	
	6^{50}	55 „	5,15	5,4 „	
	8^{15}	67 „	5,3	5,7 „	

X.

0,1 Diglykokoll-calciumchlorid
0,4 NaCl
50,0 aqua
P_H = 7,7

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Gewicht
26. III. 24.	3^{45} aufgebunden			ca. 2200 g
	4^{00}	52 %	4,25	
	5^{30}	46 „	4,5	
	6^{30}—6^{50}: 40 ccm infundiert			
	6^{50}	45 %	3,8	
	7^{30}	46 „	3,65	

XIII.

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Refrakt.	Gewicht
4. I. 24.	12^{00}	62 %	4,8	6,0 %	3000 g
5. I.	1^{15}	67 „	4,3		
	2^{25}: 10 ccm Urethan				
	3^{00}	63 %	4,5	7,0 „	
	3^{40}—4^{00}: 40 ccm Helfenbg. Lösung (1 : 4 verd.)				
	4^{15}	70 %	5,4		
	4^{45}	74 „	4,9	7,1 %	
	6^{15}	63 „	4,8	6,3 „	

XVIII.

15. II. 24.	4^{15}	56 %	6,3	6,2 %	2500 g
	4^{30}: 10 ccm Urethan				
	5^{30}: Aufgebunden				
	6^{20}	63 %	7,0	6,2 „	
	7^{00}—7^{20} Injektion von 40 ccm $Ca_3(OO_4)_2$ in Glykokollösung (3,5 % ig) P_H = 7,4.				
	7^{30}	53 %	5,7	—	
	8^{00}	63 „	7,1	7,0	

XX.

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Gewicht
7. III. 24.	4^{00}	57 %	5,5	3600 g
	4^{05} aufgespannt.			
	4^{45}	59 %	5,8	
	5^{30}—5^{50} : 40 ccm $CaCO_3$-Glykokoll-Lösg. pH = 7,3			
	6^{00}	59 %	5,8	
	6^{45}	61 „	6,0	
	7^{30}	59 „	5,9	

XXI. 0,1 g Diglykokoll-calciumchlorid (12 mg Ca)
0,05 KCl
0,35 NaCl
aqua ad 50,0
P_H = 7,6

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Gewicht
28. III. 24.	4^{10}	aufgespannt		Albino 1900 g
	4^{15}	38 %	4,2	
	5^{15}	39 „	4,2	
	6^{00}—6^{20}	Injektion von 40 ccm		
	6^{30}	49 %	4,7	
	7^{15}	50 „	5,3	

XXII. 10 ccm 5 %iges Glykokoll
5 ccm $CaCl_2$-lösg. (12 mg Ca)
7,5 ccm Na_2CO_3-lösg. (86 mg)
10,0 ccm KCl-lösg. (50 mg)
ad 50,0 aqua dest.
P_H = 7,4

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Gewicht
1. IV. 24.	3^{10}	aufgebunden		2100 g
	4^{15}	52 %	4,4	
	4^{50}	52 „	4,85	
	5^{10}—5^{40} : 35 ccm Lösg. infundiert			
	5^{50}	49 %	4,8	
	6^{30}	57 „	4,7	

XXIII.

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.	Gewicht
15. V. 24.	3^{00}	aufgespannt		2000 g
	3^{45}	41 %	4,75	
	4^{20}	43 „	5,0	
	4^{25}	8,0 ccm Urethan		
	4^{45}	45 %	4,8	
	5^{30}	Aufnahme I		
	5^{45}—6^{05}	40 ccm Normosal		
	6^{10}	Aufnahme II: Herzgröße unveränd.		
	6^{20}	43 %	4,7	
	7^{05}	45 „	4,8	

XXV.

5. IV. 24.	3^{20}	aufgespannt		4200 g
	3^{35}	42 %	4,3	
	4^{30}	49 „	4,4	
	5^{10}—5^{30}	80 ccm Normosal		
	5^{35}	43 %	4,2	
	6^{10}	49 „	4,2	

XXIX.

14. V. 24.	3^{15}	39 %	4,0	1800 g
	4^{00}	45 „	4,1	
	4^{50}—5^{10}	30 ccm Serum		
	5^{20}	—	3,7	
	5^{30}	39 %	—	
	6^{00}	39 „	4,6	

XXX.

Tier vor der Fütterung (mit Rübenkost) 2350 g (Vers. XXIV)
nach „ „ 2100 g

Tag	Stunde	Hbg.	Erythr.
30. IV. 24.	3^{50}	aufgespannt	
	4^{00}	41 %	4,3
	4^{30}	39 „	4,25
	5^{15}—5^{35}	40 ccm Normosal	
	5^{45}	39 %	3,9
	6^{20}	38 „	4,1

Literatur.

1. Kestner, Münch. med. Wochenschr. 1919, 38.
2. Bayliss, Journal of pharm. a. exp. Therapeut. 15. Nr. 1, 1920.
3. Schultze, Über die Beziehung zwischen Herzgröße und Blutvolumen bei Kaninchen. Inaug.-Diss. Göttingen 1920.
4. Hanhardt, Exp. Beitrag zur Frage nach der Bez. zw. Blutgefäßfüllung und Herzgröße. Inaug.-Diss. Göttingen 1921.
5. Birkenstock, Über die gegens. Abhängigkeit von Herzgröße und Blutzusammensetzung beim Kaninchen. Inaug.-Diss. 1920.
6. Seulberger, Über den Einfluß intravenös verabfolgter Normosalinjektionen auf den Füllungszustand des Gefäßsystems. Diss. Göttingen 1922.
7. Behrens, Über die Beziehung zwischen Blutdruck, Blutmenge und Herzgröße. Diss. Göttingen 1922.
8. Klumker, Exp. Beitrag zur Frage der Auffüllung des Blutgefäßsystems. Diss. Göttingen 1923.
9. De Toni, Kolloid. Ztschr. 28, 1921.
10. Nonnenbruch, Arch. f. exp. Pathol. und Pharm. 91, 1921.
11. Boykott und Jones, Journ. of pathol. a. bacteriol. Bd. 25, Nr. 3, 1922, zit. nach: Berichte über die ges. Exp. Pharm. und Phys. Bd. 15, 101.
12. Nonnenbruch, Ztschr. f. d. ges. exp. Med. 1922, 29 u. a.
13. Magnus, zit. nach: Ber. über d. ges. exp. Phys. und Pharm. Bd. 11, 1922, S. 317.
14. Heymann, Arch. exp. Path. und Pharm. 90, 1921, S. 27.
15. Magnus, Arch. exp. Path. und Pharm. 42, 1899.
16. Freund u. Ellinger, Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 95, 1922.
17. Atzler und Lehmann, Pflüg. Arch. Bd. 190, 1921, S. 118; und Bd. 193.
18. Atzler, Deutsch med. Wochenschr. 1923, Nr. 31, S. 1011.
19. Heß, Periphere Regulierung des Kreislaufs. Erg. der inneren Med. und Kinderhk. 1923, 23. Bd.
20. Fleisch, Ztschr. f. allg. Physiol 19, 1921, S. 269.
21. Höber, Physik. Chemie der Zelle und Gewebe. Leipzig-Berlin 1914. S. 345.
22. Pauli und Samec, Biochem. Ztschr. 17, 1909, S. 36.
23. Pfeiffer und Modelski, Chem. Zentralbl. 1913, I, 1, 511. (Aus Ztschr. f. Physiol. Chem. 81, S. 329.)
24. Pfeiffer und Modelski, Chem. Zentralbl. 1913, II, 1, 242. (Aus Ztschr. f. Physiol. Chem. 85).

25. Pfeiffer und Wittka, Ber. d. Chem. Ges. 48, II, 1915, 1289.
26. „ „ „ „ „ „ „ 48, I, 1915, 1041.
27. Pfeiffer, Ztschr. Physiol. Chemie 29, 1924, S. 1—4.
28. Heubner, Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 8.
29. Rona und Takahashi, Biochem. Ztschr. 31, 1911, S. 336.
30. Heubner, Über Calciumvergiftung. Aus Nachr. d. Ges. d. Wiss. zu Göttingen, mathem. physik. Klasse 1924.
31. Rona und Petow, Biochem. Ztschr. 137, 1923.
32. Rona und Takahashi, Biochem. Ztschr. 49, 1913.
33. Spiro, Schweiz. med. Wochenschr. Nr. 20, 1921.
34. Hamburger, Biochem. Ztschr. 129, 1922, S. 153.
35. Loeb, Biochem. Ztschr. 43, 1912, S. 181.
36. Trendelenburg und Göbel, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 89.
37. Günther u. Heubner, Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 18, S. 789.
38. Nöther, Münch. med. Wochenschr. 1921, 18, 545.
39. Freudenberg und Györgi, Erg. d. inn. Med. u. Kinderhk. Bd. 24, 1923.
40. Höber, Pflüg. Arch. 182, 1920, S. 104 und Höber, Physikal. Chemie der Zellen u. Gewebe. 1924, Bd. I, S. 530.
41. Rona, Biochem. Zeitschr. S. 12, 1909.
42. Spiro, Schweiz. Med. Wochenschr. 1921, Nr. 20.
43. Osterhout, Journal of biol. Chem. I, 363, 1906, zit. nach Höber, Physik. Chem. d. Z. u. Gew. 1914, S. 361.
44. Ellinger u. Heymann, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 91, 1921.
45. Straub, Verh. d. Kong. f. inn. Med. 1922, 204.
46. Cori, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 91, 1921, S. 130.
47. Yamamoto, Bioch. Ztschr. 1924, 145, 201.
48. Luithlen, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 68, 1912, S. 218.
49. Hasselbalch, Bioch. Ztschr. 46, 1912.
50. Beckmann und Meyer, Ztschr. f. exp. Med. 29, 1922.
51. Oehme, Klin. Wochenschr. Bd. II, 1923, Nr. 30, S. 1410.
52. E. Meyer, Deutsche med. Wochenschr. 1923, Nr. 44.
53. Jansen, Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 17, S. 715.
54. E. Meyer und Seyderhelm, Verhandl. der deutschen pharm. Ges. Freiburg 1921.
55. E. Meyer, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 1, S. 1.
56. E. Meyer, Deutsche med. Wochenschr. 46, S. 789, 1920.
57. E. Meyer und Seyderhelm, Verhandlungen der d. deutsch. Ges. für inn. Med. 1921.